

製剤に含まれる粉末生薬の同定(5) 固形化による粉末生薬の簡易鑑定法

徳本廣子, 久保田真美, 清水 宏, 指田 豊, 下村裕子
東京薬科大学薬学部 192-03 東京都八王子市堀之内1432-1

Microscopic Determination of Powdered Crude Drugs in Their Preparations (5) Simple Identification of Powdered Crude Drugs Using Solidification Agents

Hiroko TOKUMOTO, Mami KUBOTA, Hiroshi SHIMIZU,
Yutaka SASHIDA and Hiroko SHIMOMURA

School of Pharmacy, Tokyo University of Pharmacy and Life Science,
(formerly Tokyo College of Pharmacy)
1432-1 Horinouchi, Hachioji, Tokyo, 192-03 Japan.

(Received on May 14, 1993)

In the previous papers, a slicing method of sample pills was reported to be useful for microscopic identification of powdered crude drugs (J. Jpn. Bot. 60: 186, 1985; 64: 247, 1989). In this paper, we report on the effective agent to solidify powdered crude drugs. The agent has to satisfy the following requirements: 1) it does not hinder microscopic examinations, 2) it easily solidifies a sample, 3) it makes the sample easily dried, and 4) it makes the sample readily stained. The most satisfying agent was found to be a mixture of gelangum and L-HPC (Low substituted Hydroxypropylcellulose). The effect of mixing rates to the strength of binding and the feasibility of slice preparation are presented. Some microscopic examples with this solidifying method are given in the text.

(Continued from J. Jpn. Bot. 69: 47-54, 1994)

我々は粉末生薬を用いた丸剤中の構成要素を同定するに際し、丸剤の状態のままで切片を作成し観察すると処方される生薬の破片が移動せず、染色のうえで利点のあることを述べた（本誌 60: 186. 1985; 64: 247. 1989）。これより散剤や原料粉末生薬の特徴要素を示すにあたっても、固形化により丸剤同様に取り扱い得ると考え、検鏡に支障を来さず、速やかに粉末を固形化出来る固化剤を検討してきた。粉末を固形化し切片を作成して鏡検すると、構成要素の焦点の均一化および、染色による組織や細胞含有物の同定が可能となるため、従来の粉末のままでの鏡検に比べ、組織片等

の判定及び異物の確認が容易になった。

本報では有用な固化剤に付いて報告すると共に実際に粉末生薬を固形化し切片とした写真を作成したので掲げる。

実験の部

1. 固化剤の検討

各種結合剤、封鎖剤、接着剤等のうち市場性のあるものについて、鏡検に際し支障とならずかつ容易に固形化でき、染色等を妨害しない固化剤の検討を行なった。固化剤が粉末状の場合には粉末生薬と混合した後、全体が湿る程度に精製水また

は液状の固化剤を滴加し、固化剤が液状の場合には粉末生薬に直接滴加し、混合後成形、風乾する。ジェランガムの様に冷時水に溶解し難いものは、水浴中加温しながら溶解し、冷後液状の固化剤として使用する。

切片作成の難易度の検討: 主として徒手切片による方法で固化物の硬さや、鏡検用切片の厚さなどについて検討した。また切片作成が容易な固化剤について生薬との混合比を検討した。

切片染色の可否の検討: 切片作成の可能なものについて、染色に繁用されるスダンⅢ試液、酢酸メチルグリーン試液、メチルグリーン試液および塩化亜鉛ヨウ素試液を用いた。

2. 粉末の固形化、切片の作成、並びに写真の作成

最も有用と思われる固化剤を用い粉末を固形化し徒手切片を作成する。粉末要素の特徴を良く表している部位を×100（対物レンズ×20、FKレンズ×5）で撮影し、数カ所から得た写真を1枚のプレートに仕上げる。

本報に掲げる顕微鏡写真は、前報（本誌 69:47-54）までに組写真として報告した粉末生薬類を固形化して切片としたものの写真で、補足をかねて簡単な説明を加えた。

結果

検討を行なった固化剤は表1および2の通りである。表1は切片作成が可能かつ鏡検状態の良いもの、染色状態を付記した。表2は今回の目的には不適なものでその理由を付記した。

セルロースの誘導体は比較的結合力が強く切片の作成も容易であった。糖類は結合力、切片作成の容易さに欠ける。塩類は結合力が弱い上、水溶性が高く鏡検時封鎖剤中で崩壊する。ハチミツは結合力は優れるが乾燥しにくく固形化に時間がかかるに難点がある。パラフィンは固化及び切片の作成が容易であるが、粉末要素の集合状態が悪く鏡検に時間がかかる。寒天、レシチンなどは夾雑物が鏡検の支障となる。染色は一般に塩化亜鉛ヨウ素試液、スダンⅢ試液では比較的容易である。

表1 有用な固化剤と染色状態

| 固化剤 | 切片作成 | 鏡検状態 | 染色 | | | | 塩化亜鉛ヨウ素 |
|--------------------------------------|------|------|------|-----------|---------|---|---------|
| | | | スダンⅢ | 酢酸メチルグリーン | メチルグリーン | | |
| メチルセルロース (MC) | ○ | ○ | △ | × | × | △ | |
| カルメロース (CMC) | ○ | ○ | ○ | × | × | △ | |
| ヒドロキシプロピルセルロース (L-HPC) ^{*1} | ○ | ○ | ○ | × | × | ○ | |
| ヒドロキシプロピルメチルセルロース (HPMC) | ○ | ○ | ○ | × | × | ○ | |
| 10-30%ゼラチン | ○ | ○ | ○ | × | × | △ | |
| 1%、2%、3%ジェランガム ^{*2} | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | |
| 5%ジェランガム | △ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | |
| アラビアゴム | ○ | ○ | △ | × | △ | △ | |
| パラフィン | ○ | △ | ○ | ○ | ○ | ○ | |
| 合成大和糊 | ○ | ○ | ○ | × | × | × | |
| 木工用ボンド | ○ | ○ | △ | ○ | ○ | ○ | |
| 整髪料 ^{*3} | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | |
| L-HPC+ジェランガム | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | |

○…良好であるもの △…少々難はあるが可能であるもの ×…崩壊や染色が全体に及ぶなどの理由で困難であるもの

*1 低置換度ヒドロキシプロピルセルロース *2 商品名ゲルライト *3 商品名DEP

るが、酢酸メチルグリーン試液に耐えるものは少ない。

最も良好な結果を与えた固化剤は L-HPC (低置換度ヒドロキシプロピルセルロース) とジェランガムを組み合わせて使用したものであった。その条件は生薬 4 に対し 1 を加え混合後、1% ジェランガムを粉末全体が湿る程度に滴加し混合したものであった。これは速やかに固化し、各種染色も可能で保存にもある程度耐える。

比較的良好であった粉末状の固化剤は L-HPC のほか、MC (メチルセルロース)、HPMC (ヒ

ドロキシプロピルメチルセルロース) で生薬 3～5 に対し固化剤 1 を混合したものが切片作成の際に適度な硬さを与えた (表 3)。混合比は粉末の粒度による調整が望まれ、粒度の粗いものほど結合剤を多めに加えるとよい。また液状の固化剤は 1～3% のジェランガムが良好であったが、エンゴサク等数種の粉末では滴加した量の多少にかかわらず全く固化しなかった。これについては目下検討中である。

実際に L-HPC と 1% ジェランガムを用いてこれまでに報告してきた粉末生薬を固形化した。こ

表 2 不適な固化剤とその理由

| 固化剤 | 切片作成 | 鏡検状態 | 不適な理由 |
|----------------------|------|------|------------------------------|
| エチルセルロース (EC) | × | | 結合力に欠け切片作成が困難 |
| ポリビニルプロリドン (PVP) | △ | | 乾燥により切片が崩壊しやすい |
| ポロビニルアルコール (PVA) | × | | 結合力に欠け切片作成が困難 |
| ヒドロキシプロピルスター (HPS) | × | | " |
| ブドウ糖 | × | | " |
| 乳糖 | × | | " |
| ショ糖 | × | | " |
| カンテン | ○ | × | 夾雑物により鏡検に支障あり |
| トラガント | × | | 結合力に欠け切片作成が困難 |
| ロジン | × | | " |
| カナダバ尔斯 | × | | " |
| ペクチン | × | | " |
| ハチミツ | × | | 結合力はあるが、固化しにくく 乾燥状態が悪い |
| 卵白グリセリン | × | | 結合力が強く硬すぎる |
| 塩化ナトリウム | × | | " |
| 炭酸水素ナトリウム | × | | " |
| カルメロースカルシウム | × | | " |
| カルメロースナトリウム | ○ | × | プレパラート上で組織片に流動性あり |
| アルギン酸ナトリウム | ○ | × | " |
| エーロゾル軟膏 ¹ | ○ | × | 結合力はあるが、疎水性のため プレパラート作成困難 |
| Tween80 ² | △ | | 結合力に欠け切片作成が困難 |
| レシチン | △ | | 夾雑物により鏡検に支障あり |
| プロピレングリコール | × | | 結合力に欠け切片作成が困難 |
| ラウロマクロゴール | × | | " |
| 瞬間接着剤 ³ | × | | 固化、成形が困難 |

○…良好であるもの △…少々難はあるが可能であるもの ×…困難であるもの

¹ di-octyl sodium sulfosuccinate ² polyoxyethylene sorbitan monooleate ³ 商品名 アロンアルファー

表3 粉末状固化剤と生薬末の混合割合の検討

| 粉末状固化剤 | MC | | L-HPC | | HPMC | |
|---------------|-----|-----|-------|-----|------|-----|
| 固化剤1に対する生薬の割合 | A | B | A | B | A | B |
| 3 | +++ | ++ | +++ | +++ | +++ | +++ |
| 4 | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ |
| 5 | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ |
| 6 | + | - | ++ | ++ | + | - |
| 7 | | | ++ | + | | |
| 8 | | | + | + | | |

+++: 良好, 薄い切片を作成しやすい ++: 良, 切片を作成しやすい +: 固形化, 切片作成は可能

-: 切片作成困難

A: 結合力の優劣 B: 切片作成の難易

これらの切片の顕微鏡写真を Fig. 1-Fig. 11 に示す。従来の基本組写真と比較するため、組織の存在状態を中心に各粉末について簡単な説明を記す。

桂皮末 Powdered Cinnamon Bark (Fig. 1): 多量に出現する皮部柔細胞により全体的に褐色を呈するため、細胞壁の白い石細胞 (st1, st2) がより明瞭となる。コルク層 (kl) は表面視の他、整った長方形梯子状の横断面として見られる。特に厚膜したコルク石細胞が明瞭であり、時にタンニンを含む赤褐色の破片として認められる。200号篩を通過する粉末では纖維 (bf) が完全な形態で出現することはほとんどないのでこれを特徴要素として扱えない場合がある。100号篩上に残留するものを見物としたときは Fig. 1-B に示す形状で現れる。

牡丹皮末 Powdered Moutan Bark (Fig. 2): 多量の澱粉粒 (sta) のため切片はほぼ無色。褐色を示すコルク細胞 (kl) を僅かに認める。粉末プレパラートでは確認しにくい本品のシュウ酸カルシウムの集晶 (ca) は比較的容易に確認できる。

Fig. 2-A は正規の牡丹皮末であるが市販品の中には B に示すように皮部の組織のみでなく導管や木部纖維 (wf) などの厚膜細胞や髓の細胞 (m) を認めるものがあり、これらは芯抜き (木部除去) の不足を示唆するものである。

芍薬末 Powdered Paeony Root (Fig. 3): 多量の澱粉粒 (sta) の他、褐色を示すコルク細胞 (kl)

や各種道管 (v, vp, vr) が認められる。シュウ酸カルシウムの集晶 (ca) も多く、偏光により大きく光るので容易に認められる。

桃仁末 Powdered Peach Kernel (Fig. 4): 胚乳 (alb) が要素の大部分を占めるため、アリューロン粒 (ag) 及び油滴 (o) を含む組織を多量に認める。種皮表皮が変化した褐色の石細胞 (st) や種皮 (sd) の組織片の観察が容易となる。

茯苓末 Powdered Hoelen (Fig. 5): 菌糸 (hp1, 2, myc) のかたまりとして認められる。褐色の菌糸 (hp3) の出現量で外層の混入度が推定される。類似の要素からなる猪苓末 Powdered Chuling (Fig. 6) とは菌糸の径、および結晶 (cr) の出現状態が異なり、固化して切片にすると区別は容易となる。

地黄末 Powdered Rehmannia Root (Fig. 7): 多量の柔組織片中の赤褐色～黒紫色の内容物のために切片は全体的に赤味を帯びる。径の大きな単節性の網紋導管 (vr) が目だち、せん孔 (pfs) は観察し易くなる。

山茱萸末 Powdered Cornus Fruit (Fig. 8): 多量に出現する赤橙色内容物をもつ偽果の柔細胞により全体的に赤褐色～赤淡褐色を呈する。厚いクチクラを持つ表皮細胞 (ep) が、厚角細胞 (co) を伴い多量に出現する状態や、径の細い螺旋紋導管 (vs)、シュウ酸カルシウムの集晶 (ca) などは見やすくなる。特に柔細胞内部にあるイヌリン

の結晶 (in) が認め易くなるなどの点で、特徴的な要素の把握が容易となる。

山薬末 Powdered *Dioscorea* Rhizome (Fig. 9): 楕円形、類3～5角形の澱粉粒 (sta) を多量に認め、これに介在し纖細な肥厚を見せる道管類 (v, vc, vr, vs) を認める。澱粉以外の組織の出現を多くする目的で微末 (200号篩通過) 部位を除去した粉末を写真に示した。

沢瀉末 Powdered *Alisma* Rhizome (Fig. 10): 球形の澱粉粒 (sta) を含む柔細胞が多量に認められる。出現頻度の比較的少ない、壁が波状で石細胞化する内皮 (en) を容易に観察することが出来る。

加工附子末 Powdered *Aconite* Root (Fig. 11): 加熱処理が施されているため糊化澱粉 (gst) を含有する組織片を多量に認める。糊化していない澱粉粒により、賦形剤として用いられた澱粉を鑑定できる。

結 語

粉末を固形化して切片とすると以下の1-3のような利点がある。

1. プレパラート中で組織片等が流動する事なく同じ組織片を同じ条件で繰り返し観察ができる。
2. 出現頻度の比較的少ない組織も短時間で観察することが可能で、膜質や内容物の判定に染色法を用いることができる。そのため異物の混入も容易に判定できる。
3. 油分の多い生薬は粒度の大きい粉末が多く、顕微鏡下組織の判定が困難であった。

本法では比較的粒度の大きい粉末でも切片としたため焦点を均一にして組織片を観察することが

可能である。

以上より本法は单品の粉末生薬の構成要素を明らかにする場合、およびその製剤の鏡検による鑑定に有用な方法であると考える。実際の鑑定に際し、組織片の立体的な感覚が把握できる従来の基本写真とあわせて用いると、より正確な鑑定結果が期待できる。

図版 1-11の略号

ag: アリューロン粒, alb: 胚乳, bf: 鞘皮纖維, ca: シュウ酸カルシウム集晶, cn: 針晶, co: 厚角細胞, cr: 結晶, cu: クチクラ, en: 内皮, ep: 表皮, fb: 纖維束, gst: 糊化澱粉, hp: 菌糸, in: イヌリン結晶, kl: コルク細胞, コルク層, m: 髓細胞, mr: 放射組織, muc: 粘液細胞, myc: 菌糸体, o: 油滴, p: 柔細胞, pfc: 階段せん孔, ph: 師部, sd: 種皮, sec: 分泌細胞, st: 石細胞, sta: 澱粉粒, stc: 複澱粉粒, v: 道管, vc: 階紋道管, vg: 環紋道管, vp: 孔紋道管, vr: 網紋道管, vs: らせん紋道管, wf: 木部纖維, wp: 木部柔組織。

引用文献

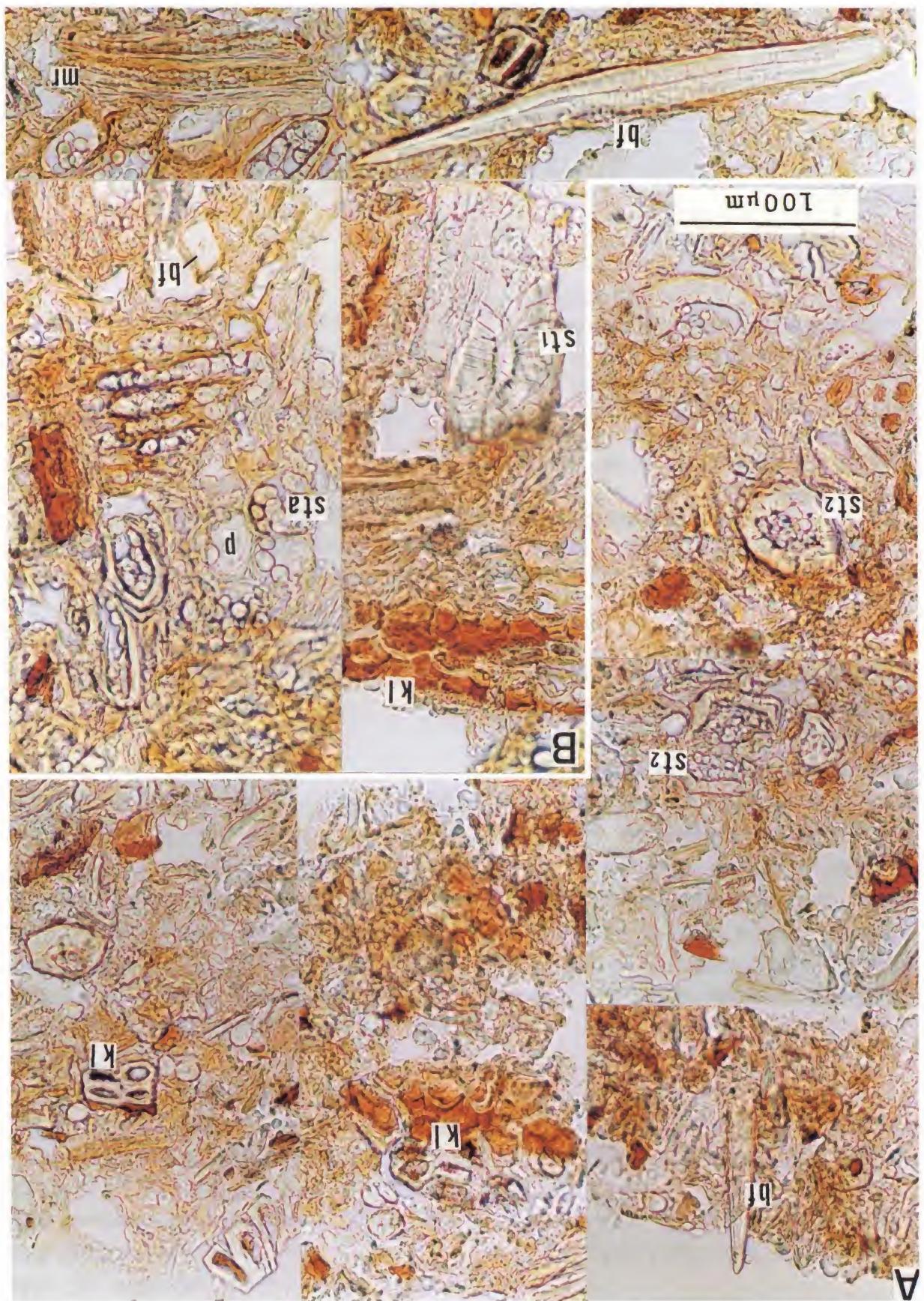
下村裕子, 指田 豊, 田中とく江 1985. 製剤に含まれる粉末生薬の同定(1)桂枝茯苓丸の顕微鏡写真. 植物学研究雑誌 60: 186.

—, —, — 1985. 同上(2)桂皮末・牡丹皮末・芍薬末・桃仁末・茯苓末の顕微鏡写真. 植物学研究雑誌 60: 243.

下村裕子, 指田 豊, 徳本廣子 1989. 同上(3)八味地黄丸. 植物学研究雑誌 64: 247.

—, —, — 1994. 同上(4)地黄末・山茱萸末・山薬末・沢瀉末・加工附子末の顕微鏡写真. 植物学研究雑誌 69: 47.

Fig. 1. Photomicrograph of elements of Powdered Cinnamon Bark.



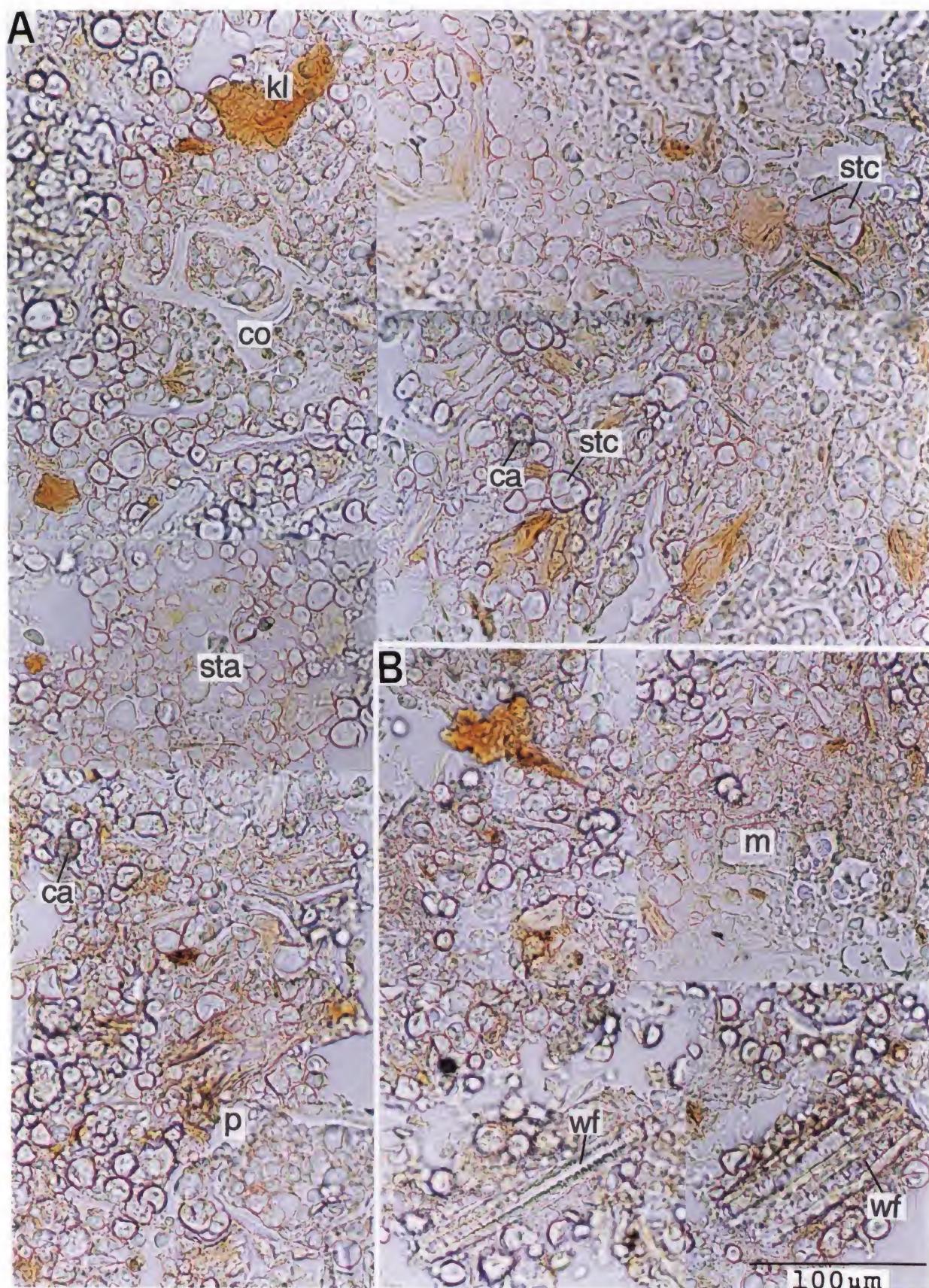


Fig. 2. Photomicrograph of elements of Powdered Moutan Bark.

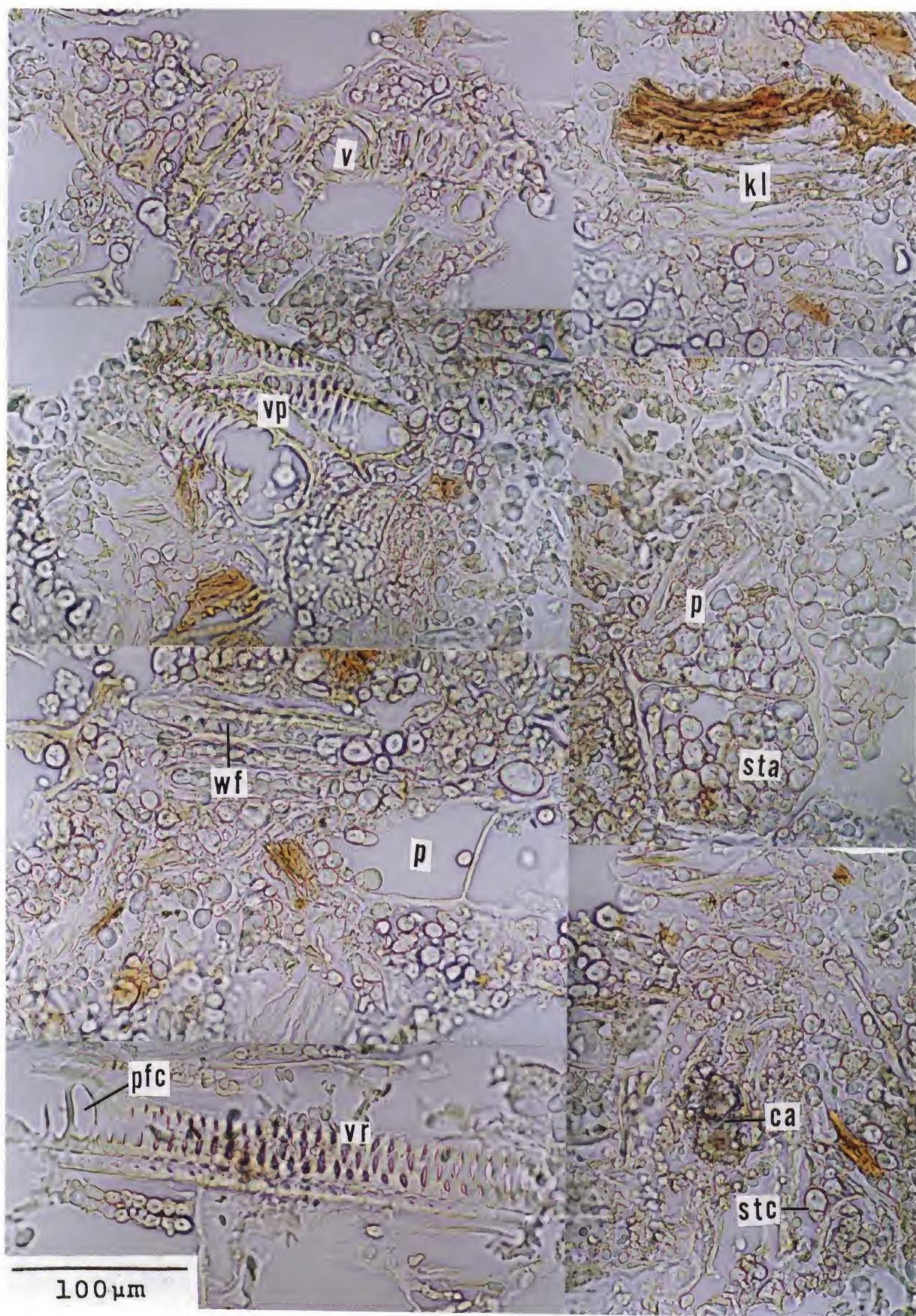


Fig. 3. Photomicrograph of elements of Powdered Paeony Root.

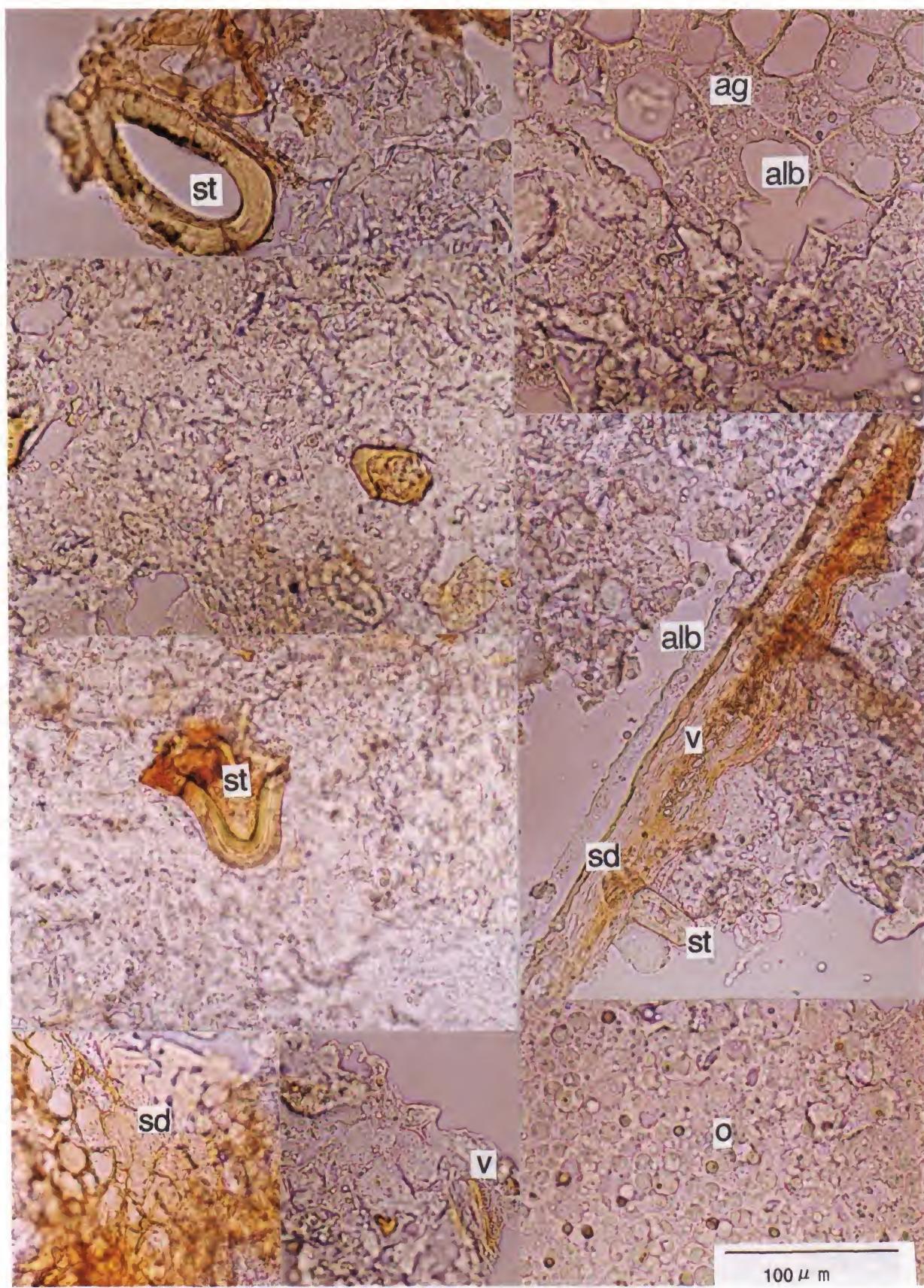


Fig. 4. Photomicrograph of elements of Powdered Peach Kernel.

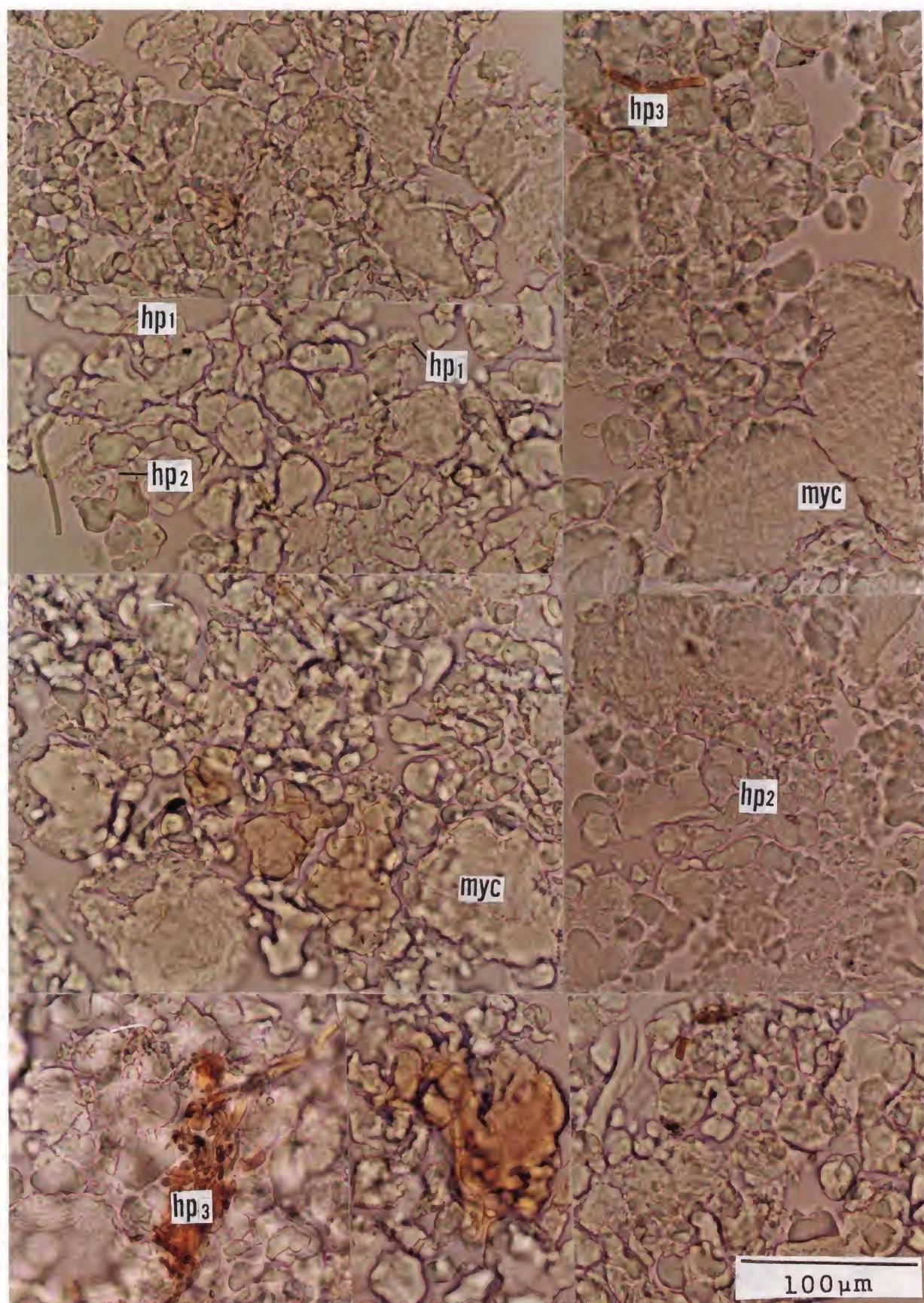


Fig. 5. Photomicrograph of elements of Powdered Hoelen.

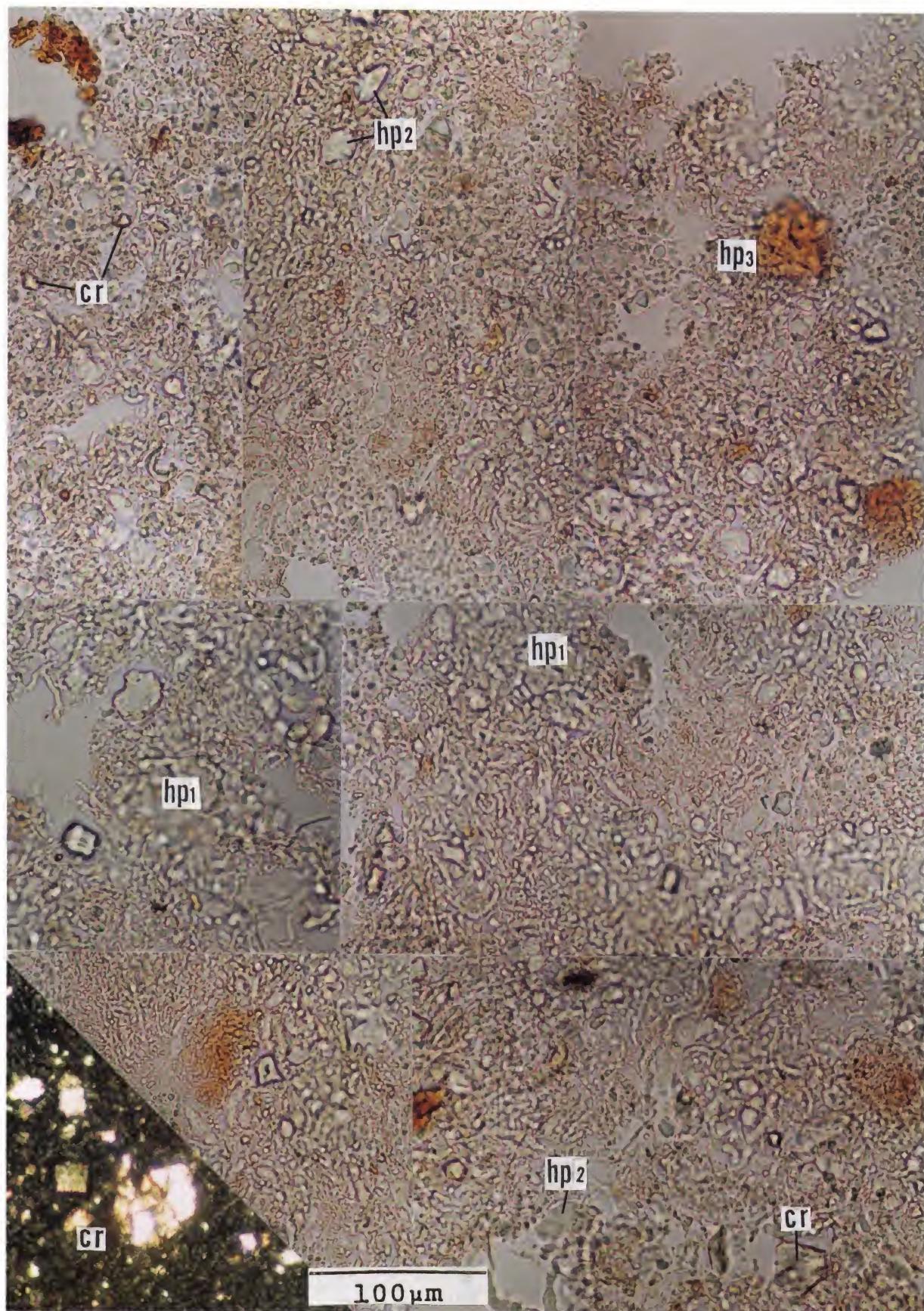


Fig. 6. Photomicrograph of elements of Powdered Chuling.



Fig. 7. Photomicrograph of elements of Powdered Rehmannia Root.



Fig. 8. Photomicrograph of elements of Powdered Cornus Fruit.

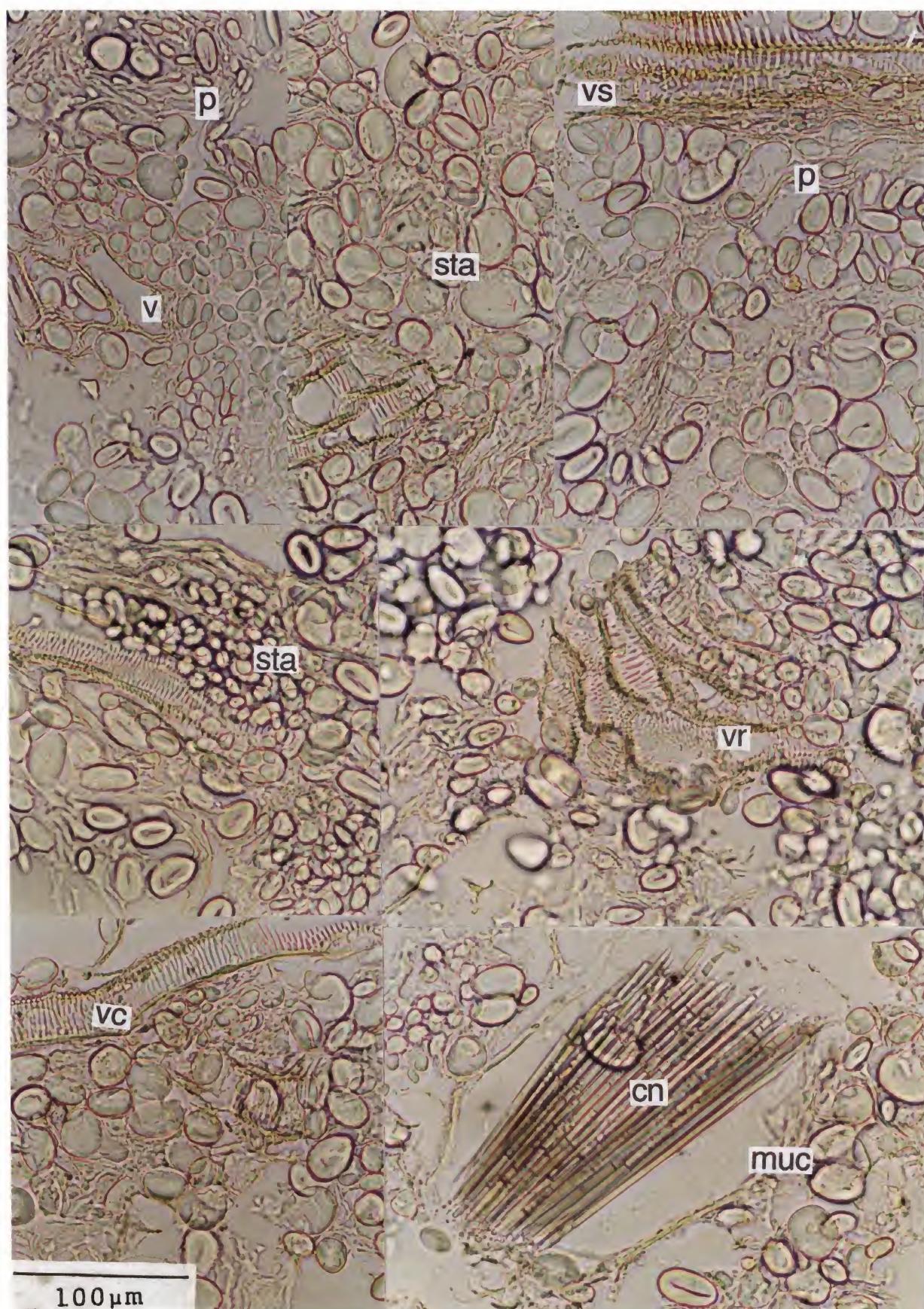


Fig. 9. Photomicrograph of elements of Powdered *Dioscorea* Rhizome.

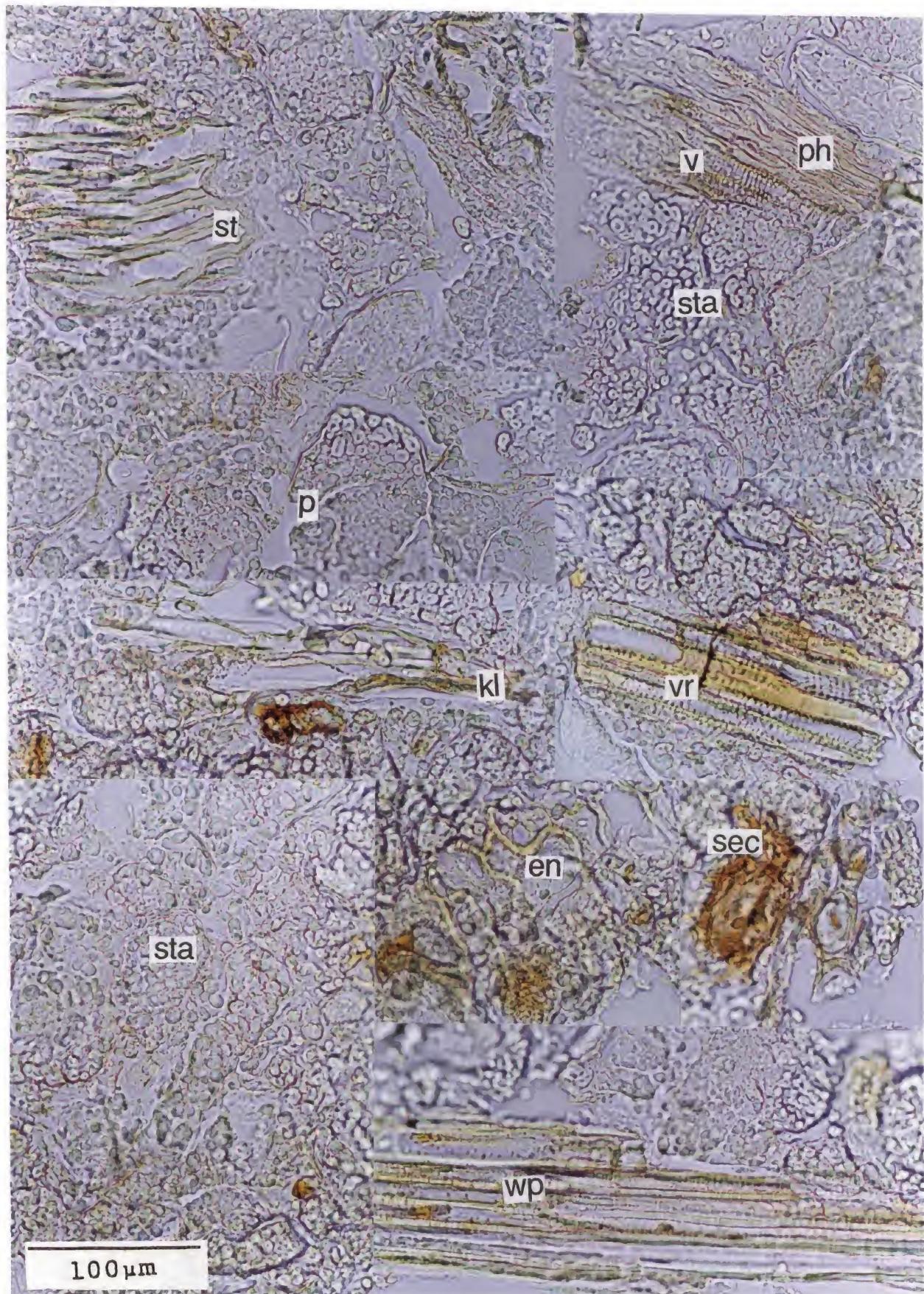


Fig. 10. Photomicrograph of elements of Powdered *Alisma* Rhizome.

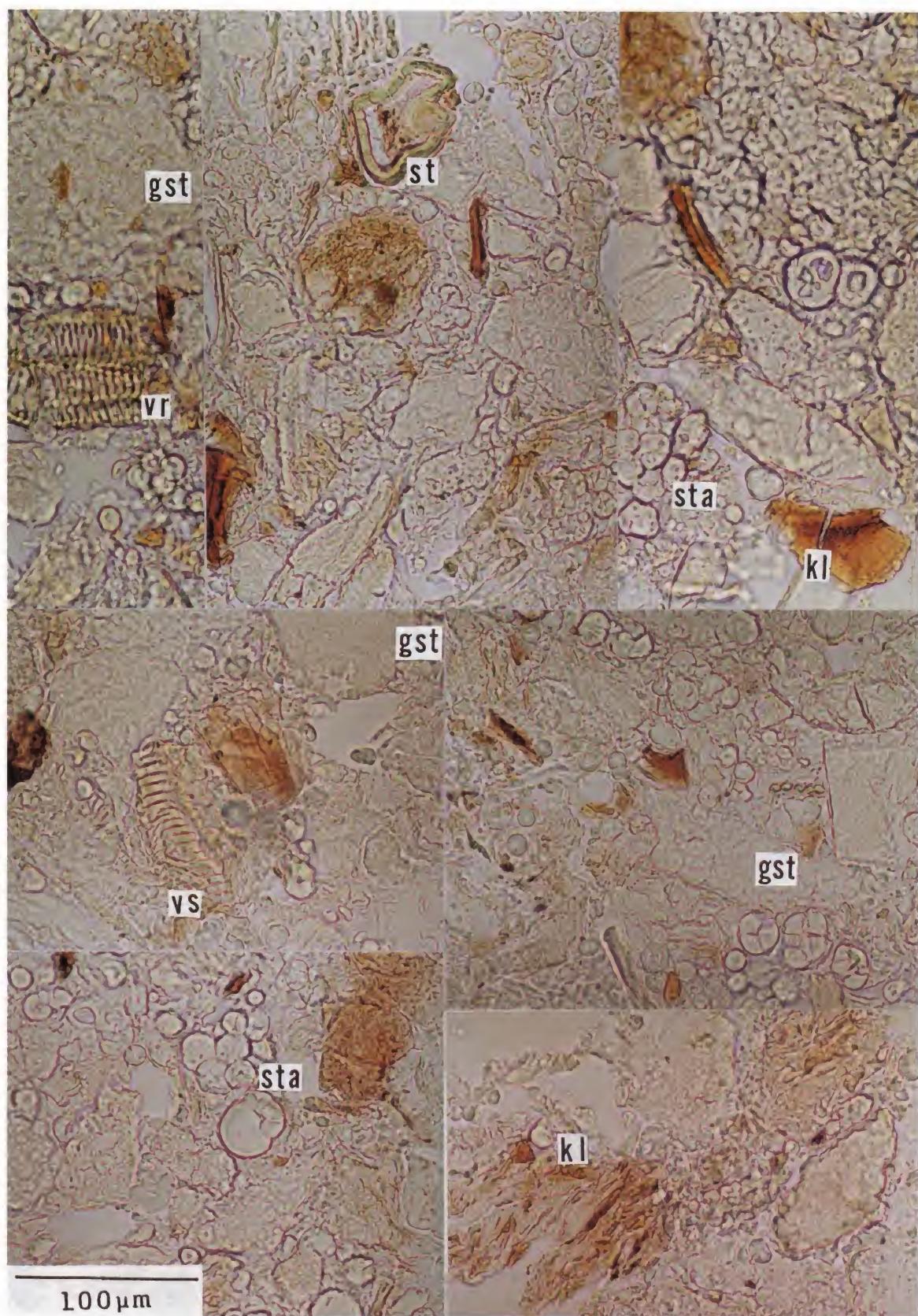


Fig. 11. Photomicrograph of elements of Powdered Aconitum Root.